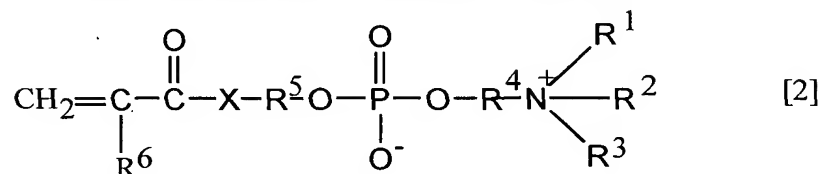


免疫学的測定法用凝集促進剤

【発明の詳細な説明】

【従来の技術】

抗原又は抗体を適当な担体上に固定化し、これと、例えば血清、血漿、尿等の



生体由来試料とを混合して凝集が生じるか否かを見ることによる、試料中測定対象物質の存在の確認又は濃度の測定方法、或いは抗原抗体反応により生ずる濁りに基づいた試料中測定対象物質の存在の確認又は濃度の測定方法等は、いわゆる免疫学的測定法として知られている測定法である。

このような抗原抗体反応に起因する凝集や濁りを測定する場合には、通常いわゆる凝集促進剤と呼ばれる各種化合物が使用される。この凝集促進剤は、抗原抗体反応に基づく凝集をより生じさせやすくする作用を有するものであり、このような凝集促進剤としては、例えばポリエチレングリコール、デキストラン、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース等が知られており、中でもポリエチレングリコールがよく用いられている。

しかしながら、このポリエチレングリコールは、塩濃度の高い溶液中では塩析されるため、このような溶液を免疫学的測定法用試液として用いると試薬盲検値（ブランク値）が高くなり測定精度が悪くなるという問題があった。

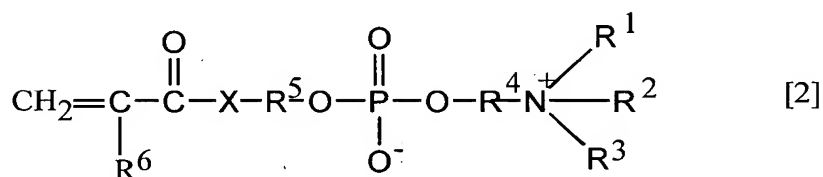
一方、近年、抗原抗体反応に基づく凝集や濁りを利用して、より高感度に測定しようとする傾向が見られており、従来使用されてきたポリエチレングリコールに比較して、凝集促進効果が同等若しくはそれ以上で、非特異的な濁りが生じ難く、且つ塩濃度の高い溶液中でも塩析され難い凝集促進剤の開発が求められている。

【課題を解決するための手段】

本発明は、このような現状に鑑みなされたもので、従来公知の凝集促進剤に比較して、凝集促進効果が同等若しくはそれ以上で、非特異的な濁りが生じ難く、

且つ塩濃度の高い溶液中でも塩析され難い凝集促進剤を用いた前立腺特異抗原（PSA）の免疫学的測定法、及び該凝集促進剤を含む試薬を有する免疫学的測定試薬キットを提供することを目的とするものであり、その手段として以下のものを提供するものである。

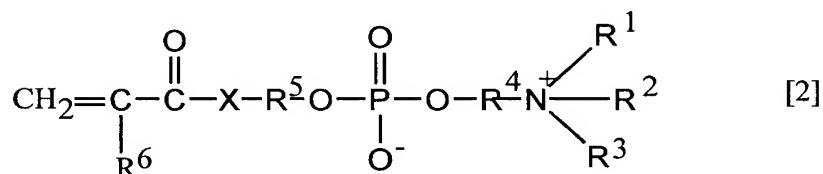
即ち、（１）下記一般式〔２〕



（式中、 $\text{R}^1 \sim \text{R}^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、 X は酸素原子又は $-\text{NH}-$ 基を示す。）

で表されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーの存在下に抗原抗体反応を行わせることを特徴とする前立腺特異抗原の免疫学的測定法。

（２）下記一般式〔２〕



（式中、 $\text{R}^1 \sim \text{R}^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、 X は酸素原子又は $-\text{NH}-$ 基を示す。）

で示されるモノマーと、アクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はその N 置換体、メタクリルアミド又はその N 置換体、或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーとの共重合体を含んでなる試薬と、前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原を含んでなる試薬と組み合わせてなる、前立腺特異抗原の免疫学測定用試薬キットに関する。

即ち、本発明者等は、免疫学的測定法に於ける、公知の凝集促進剤に比較して、凝集促進効果が同等若しくはそれ以上で、非特異的な濁りが生じ難く、且つ塩濃度の高い溶液中でも塩析され難い凝集促進剤を用いたP S Aの免疫学的測定方法及び免疫学的測定法用凝集促進剤を含む試薬を有する免疫学的測定試薬キットを見出すべく鋭意研究の結果、上記一般式〔2〕で示されるポリマー（以下、本発明のポリマーと略記する場合がある）が目的の性能を有していることを見出し、本発明を完成するに至った。

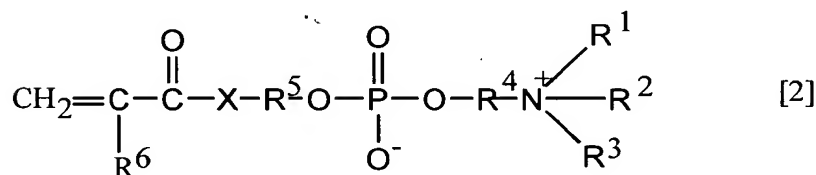
【図面の簡単な説明】

図1は、参考例5で得られたCRP濃度（mg／dL）と比較例4で得られたCRP濃度（mg／dL）との相関関係を示した図である。

【発明の実施の形態】

本発明に於いて、凝集促進剤として用いられるポリマーは、ホモポリマーでもコポリマーでも特に限定されないが、通常分子量が10,000～1,000,000、好ましくは10,000～500,000、より好ましくは50,000～500,000である。

具体的には、下記一般式〔2〕



（式中、 $\text{R}^1 \sim \text{R}^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、Xは酸素原子又は $-\text{NH}-$ 基を示す。）

で表されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーが好ましく挙げられる。

上記一般式〔2〕に於いて、 $\text{R}^1 \sim \text{R}^3$ で示される水酸基を有していてもよいアルキル基のアルキル基としては、直鎖状、分枝状、環状の何れでもよく、通常炭素数1～22、好ましくは1～20、より好ましくは1～2、更に好ましくは1のものが挙げられ、具体的には、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、

イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、sec-ペンチル基、tert-ペンチル基、n-ヘキシル基、イソヘキシル基、sec-ヘキシル基、tert-ヘキシル基、シクロプロピル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基、ラウリル基、ミリスチル基、パルミチル基、ステアリル基等が挙げられ、好ましくはメチル基、エチル基等であり、より好ましくはメチル基等である。

また、水酸基を有するアルキル基としては、上記した如きアルキル基の水素原子の1～2個、好ましくは1個が水酸基に置換したものが挙げられ、具体的には、例えばヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基、ヒドロキシ-n-プロピル基、ヒドロキシイソプロピル基、ヒドロキシ-n-ブチル基、ヒドロキシ-イソブチル基、ヒドロキシ-sec-ブチル基、ヒドロキシ-tert-ブチル基、ヒドロキシ-n-ペンチル基、ヒドロキシ-イソペンチル基、ヒドロキシ-sec-ペンチル基、ヒドロキシ-tert-ペンチル基、ヒドロキシ-n-ヘキシル基、ヒドロキシ-イソヘキシル基、ヒドロキシ-sec-ヘキシル基、ヒドロキシ-tert-ヘキシル基、ヒドロキシ-シクロプロピル基、ヒドロキシ-シクロヘキシル基、ヒドロキシ-シクロペンチル基等が挙げられ、好ましくはヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基等である。

R⁴ で示されるアルキレン基としては、例えば炭素数1～6、好ましくは2～3のものが挙げられ、これらは直鎖状、分枝状、環状の何れでもよい。具体的には、例えばメチレン基、エチレン基、プロピレン基、トリメチレン基、ブチレン基、1-エチルエチレン基、2-メチルトリメチレン基、2-エチルトリメチレン基、ヘキシレン基、シクロプロピレン基、シクロブチレン基、シクロペンチレン基、シクロヘキシレン基等が挙げられ、好ましくはエチレン基、プロピレン基、トリメチレン基等である。

一般式〔2〕に於いてR⁵ で表される、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基において、酸素を有さない場合のアルキレン基としては、例えば炭素数1～10、好ましくは1～6、より好ましくは2～6のものが挙げられ、これらは直鎖状、分枝状、環状の何れでもよい。具体的には、例えばメチレン基、エチレン基、プロピレン基、トリメチレン基、ブチレン基、1-エチルエチレン基、2-メチルトリメチレン基、2-エチルトリメ

チレン基、ヘキシレン基、シクロプロピレン基、シクロブチレン基、シクロペンチレン基、シクロヘキシレン基等が挙げられる。また、その置換基としては、例えば炭素数1～6、好ましくは1～3のアルコキシ基〔直鎖状、分枝状、環状の何れにてもよい。〕、より具体的には例えばメトキシ基、エトキシ基、*n*-プロポキシ基、イソプロポキシ基、*n*-ブトキシ基、イソブトキシ基、*sec*-ブトキシ基、*tert*-ブトキシ基、*n*-ペンチルオキシ基、イソペンチルオキシ基、*sec*-ペンチルオキシ基、*tert*-ペンチルオキシ基、*n*-ヘキシルオキシ基、イソヘキシルオキシ基、*sec*-ヘキシルオキシ基、*tert*-ヘキシルオキシ基、シクロプロポキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロペンチルオキシ基等、例えばハロゲン原子、より具体的にはフッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等が挙げられ、好ましくはエチレン基、プロピレン基、トリメチレン基、ブチレン基等である。また、鎖中に酸素原子を有する場合、酸素原子としては1～5個、好ましくは1～3個であり、より具体的には $-(C_2H_4O)_n-C_2H_4-$ （式中、*n*は1～5の整数を表す。）等が挙げられる。

上記一般式〔2〕で表されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーがコポリマーである場合、上記一般式〔2〕で表されるモノマーに由来するモノマー単位以外のモノマー単位としては、例えばアクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はそのN置換体、メタクリルアミド又はそのN置換体、或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーに由来するものが挙げられる。尚、これらモノマー単位は、コポリマー中に2種類以上含まれていてもよい。

ここで、アクリル酸エステルとしては、アルキルアクリレート、アラルキルアクリレート等が、メタクリル酸エステルとしては、アルキルメタクリレート、アラルキルメタクリレート等が挙げられ、アクリルアミドのN置換体は、N-アルキルアクリルアミド又はN-アラルキルアクリルアミドであり、メタクリルアミドのN置換体は、N-アルキルメタクリルアミド又はN-アラルキルメタクリルアミドであり、スチレン誘導体としては、 α -メチルスチレン、置換基を有するスチレン又は α -メチルスチレン等が挙げられる。

上記のアルキルアクリレート、アルキルメタクリレート、N-アルキルアクリ

ルアミド及びN-アルキルメタクリルアミドに於けるアルキル基としては、直鎖状、分枝状、環状の何れでもよく、通常炭素数1～6，より好ましくは、1～4のものが挙げられ、具体的には、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、sec-ペンチル基、tert-ペンチル基、n-ヘキシル基、イソヘキシル基、sec-ヘキシル基、tert-ヘキシル基、シクロプロピル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基等が挙げられる。このアルキル基は置換基を有していてもよく、置換基としては例えばトリアルキルアンモニオ基（アルキル基としては、例えばメチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基等の炭素数1～3のものが挙げられる。尚、置換基としてトリアルキルアンモニオ基を有する場合、本置換基はプラスに荷電しているため、通常カウンターアニオンが結合しているが、このようなカウンターアニオンとしては、フッ素イオン、塩素イオン、臭素イオン、ヨウ素イオン等のハロゲン化物イオン等が挙げられる。）等が挙げられる。

また、アラルキルアクリレート、アラルキルメタクリレート、N-アラルキルアクリルアミド及びN-アラルキルメタクリルアミドに於けるアラルキル基としては、炭素数7～10のものが挙げられ、具体的には、例えばベンジル基、フェニルエチル基、フェニルプロピル基、フェニルブチル基等が挙げられる。

スチレン若しくは α -メチルスチレンが有していてもよい置換基としては、例えば直鎖状、分枝状、環状の、通常炭素数1～6，より好ましくは1～4のアルキル基（具体的には、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、sec-ペンチル基、tert-ペンチル基、n-ヘキシル基、イソヘキシル基、sec-ヘキシル基、tert-ヘキシル基、シクロプロピル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基等）、例えば直鎖状、分枝状、環状の、通常炭素数1～6，より好ましくは1～4のアラルキル基（具体的には、例えばメトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、イソブトキシ基、sec-ブトキシ基、tert-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、イソペンチルオキシ基、sec-ペンチルオキシ基、tert-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基

、イソヘキシルオキシ基、sec-ヘキシルオキシ基、tert-ヘキシルオキシ基、シクロプロポキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロペンチルオキシ基等)、例えばフッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等のハロゲン原子、カルボキシ基、ヒドロキシ基、アミノ基等が挙げられる。

これらモノマーの具体例としては、例えばメタクリル酸、メタクリル酸メチル、メタクリル酸エチル、メタクリル酸プロピル、メタクリル酸ブチル、メタクリル酸2-エチルヘキシル、メタクリル酸ラウリル、メタクリル酸ステアリル、メタクリル酸2-トリメチルアンモニオエチル、メタクリル酸ベンジル、メタクリル酸フェニルエチル、アクリル酸、アクリル酸メチル、アクリル酸エチル、アクリル酸ブチル、アクリル酸2-エチルヘキシル、アクリル酸ラウリル、アクリル酸ステアリル、アクリル酸2-トリメチルアンモニオエチル、アクリル酸ベンジル、アクリル酸フェニルエチル、アクリルアミド、N-メチルアクリルアミド、N-エチルアクリルアミド、N-ブチルアクリルアミド、N-2-エチルヘキシルアクリルアミド、N-ラウリルアクリルアミド、N-ステアリルアクリルアミド、N-2-トリメチルアンモニオエチルアクリルアミド、N-ベンジルアクリルアミド、N-フェニルエチルアクリルアミド、メタクリルアミド、N-メチルメタクリルアミド、N-エチルメタクリルアミド、N-ブチルメタクリルアミド、N-2-エチルヘキシルメタクリルアミド、N-ラウリルメタクリルアミド、N-ステアリルメタクリルアミド、N-2-トリメチルアンモニオエチルメタクリルアミド、N-ベンジルメタクリルアミド、N-フェニルエチルメタクリルアミド、スチレン、カルボキシスチレン、ヒドロキシスチレン、アミノスチレン、メチルスチレン、エチルスチレン、メトキシスチレン、エトキシスチレン、クロロスチレン、ブロモスチレン、 α -メチルスチレン、 α -メチルーカルボキシスチレン、 α -メチルーヒドロキシスチレン、 α -メチルーアミノスチレン、 α -メチルーメチルスチレン、 α -メチルーエチルスチレン、 α -メチルーメトキシスチレン、 α -メチルーエトキシスチレン、 α -メチルークロロスチレン、 α -メチルーブロモスチレン、メタクリル酸ポリオキシエチル、N,N,N-トリエチルアンモニウムエチルメタクリレートブロミド、N,N,N-トリメチルアンモニウムエチルメタクリレートクロリド、N,N,-ジエチルーN-プロピルアンモニウムエチルメタクリレートブ

ロミド、N,N,N-トリメチルアンモニウム-2-ヒドロキシプロピルメタクリレートクロリド (QM)、N,N,N-トリメチルアンモニウムメチルスチレンブロミド等が挙げられ、中でもメタクリル酸、メタクリル酸ステアリル、メタクリル酸ベンジル、メタクリル酸ブチル、メタクリル酸ポリオキシエチル、N,N,N-トリメチルアンモニウム-2-ヒドロキシプロピルメタクリレートクロリド (QM) 等が好ましく、更に好ましくはメタクリル酸ベンジルである。

尚、共重合体における、一般式〔2〕で示されるモノマーに由来するモノマー単位の比率は、通常20%以上100%未満であり、好ましくは30~95%であり、より好ましくは30~90%、更に好ましくは60~90%である。

本発明に係る一般式〔2〕で示されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーは、市販されているものを用いてもよいし、例えば特開平10-45794号公報、特開2000-239696号公報等に記載された方法に準じて合成されたものを用いてもよい。

本発明に係る凝集促進剤は、上記した如き、一般式〔2〕で示されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーを含有するものであり、例えば免疫比濁法、免疫比ろう法、ラテックス凝集法等の抗原抗体反応に由来する凝集等に基づいて測定対象物質の測定を行う自体公知の免疫学的測定法に於いて用いられる各種試薬（通常、溶液である）に適宜溶解させて用いられ、好ましくは、免疫比濁法又はラテックス凝集法で用いられる試薬に溶解させて用いられ、より好ましくは、ラテックス凝集法で用いられる試薬に溶解させて用いられる。上記の各種試薬で用いられる凝集促進剤の使用濃度としては、抗原抗体反応を行わせる際の反応液中の濃度として、通常0.1~20W/V%、好ましくは0.1~10W/V%、より好ましくは0.1~5W/V%、更に好ましくは0.1~2.0W/V%となるように用いられる。尚、このような濃度で行うことにより、ブランク上昇を測定に影響を及ぼさない範囲に押さえることができ、且つ本願発明の凝集促進効果を十分に発揮することができる。

また、本発明の測定法を実施するには、抗原抗体反応を行わせる際に、本発明に係るポリマー又は使用時に混合した本発明に係る試薬キットを上記した如き濃度共存させて行う以外は、例えば免疫比濁法、免疫比ろう法、ラテックス凝集法

等の、抗原抗体反応に由来する凝集等に基づいて測定対象物質の測定を行う自体公知の免疫学的測定法に於いて用いられる各種試薬を用い、自体公知の操作法に準じて行えばよい。

本発明の測定方法に於いて用いることのできる緩衝剤としては、例えばトリス緩衝剤、リン酸緩衝剤、ペロナール緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、グッド緩衝剤等通常免疫比濁法、免疫比ろう法に用いられている緩衝剤は全て挙げられ、測定反応時のpHとしては抗原抗体反応を抑制しない範囲であれば特に限定されないが、通常6～10の範囲から好ましく選択される。散乱光を測定する方法（比ろう法）は、例えば金原出版株式会社、臨床検査法提要、第30版、第2刷、p. 851-853(1993)、等に記載された方法に準じて行えばよく、また、透過光を測定する方法（免疫比濁法）は、例えば同じく金原出版株式会社、臨床検査法提要、第30版、第2刷、p. 853-854(1993)等に記載された方法に準じて行えばよく、更にまた、測定対象物質に対する抗体又は抗原を感作させたラテックスの凝集の程度を散乱光、透過光等の変化に基づいて測定しその結果に基づいて測定対象物質の測定を行うラテックス凝集法は、例えば免疫測定法の新しい活用事例と診断試薬・治療薬開発への応用（経営教育出版社）p. 103-187等に記載された方法に準じて行えばよい。

また、比ろう法、免疫比濁法、ラテックス凝集法による散乱光又は透過光の測定は、自動分析装置、分光光度計等の生化学汎用機や、レーザーネフェロメーター等の比ろう測定用専用機等を用いて測定を行えば良く、詳しくは各機器のマニュアルに従えばよい。

本発明に係る試薬キットは、一般式〔2〕で示されるモノマーと、アクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はそのN置換体、メタクリルアミド又はそのN置換体、或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーとの共重合体を含んでなる試薬と、前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原を含んでなる試薬と組み合わせてなるものであり、一般式〔2〕で示されるモノマー、並びにアクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はそのN置換体、メタクリルアミド又はそのN置換体、或いはスチレン又はその誘導体か

ら選ばれるモノマーの具体例は、上記の通りである。尚、一般式〔2〕で示されるモノマーと、アクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はそのN置換体、メタクリルアミド又はそのN置換体、或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーとの共重合体を含んでなる試薬中には、抗原抗体反応の非特異的反応を抑制する作用を有するグアニジンやアルギニン等を添加してもよい。その添加量としては、目的の効果が得られる量であれば特に限定されないが、グアニジンの場合は、100～700mMとなるように、また、アルギニンの場合は、100～400mMとなるように添加するのが好ましい。

前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原を含んでなる試薬中の前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原は、担体等に担持されているものであってもよく、その担体としては例えばラテックス等が好ましいものとして挙げられる。

また、上記試薬キット中には、緩衝剤（例えばトリス緩衝剤、リン酸緩衝剤、ペロナール緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、グッド緩衝剤等）、安定化剤（例えばアルブミン、グロブリン、水溶性ゼラチン、界面活性剤、糖類等）、防腐剤（例えばサリチル酸、安息香酸、アジ化ナトリウム等）、その他この分野で用いられているものであって、共存する試薬等の安定性を阻害したり、抗原抗体反応を阻害しないものを有していてもよい。またその使用濃度も、通常この分野で通常用いられる濃度範囲で用いればよい。

以上述べたことから明らかな如く、本発明は、従来公知の凝集促進剤に比較して、凝集促進効果が同等若しくはそれ以上で、非特異的な濁りが生じ難く、且つ塩濃度の高い溶液中でも塩析され難い凝集促進剤を用いるP S Aの免疫学的測定法及び該凝集促進剤を含んでなる試薬とP S Aに対する抗体又はP S Aを含んでなる試薬とを組み合わせる試薬キットを提供するものであり、該免疫学的測定法を用いることで、塩濃度の高い溶液中に於いても凝集促進剤が従来と同等又はそれ以上の凝集促進効果を発揮し、且つ非特異的な濁りが生じ難くするため、精度の高いP S A測定を可能にする。

以下実施例によって本発明を説明するが、本発明はこれによって限定されるも

のでない。

【実施例】

合成例 1 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (MPC) 及びn-ブチルメタクリレート (BMA) の共重合体 (8 : 2) の合成

MPC 4.7 g (16mM) と BMA 0.57 g (4 mM) を重合用ガラス反応管に入れ、更に該反応管に重合開始剤として 2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) 0.03 g 及び重合溶媒としてメタノール 20ml を加えた。反応管内を十分にアルゴン置換した後、密封した。次いで、24時間 60℃ で、重合反応を行った。得られた反応混合物を氷冷した後、400ml のジエチルエーテルに滴下することによりポリマーを沈殿させた。該沈殿物を濾別し、ジエチルエーテルで充分洗浄した後、減圧乾燥して白色粉末状の重合体を得た。得られた重合体をポリマー 1 とした。尚、ポリマー 1 の分子量は 600000 であった。

合成例 2 MPC/BMA 共重合体 (5 : 5) の合成

用いる MPC と BMA のモル比が 5 : 5 となるように合計 20mM 使用した以外は、上記合成例 1 と同様に合成を行い、ポリマー 2 を得た。尚、ポリマー 2 の分子量は 338000 であった。

合成例 3 MPC/BMA 共重合体 (3 : 7) の合成

用いる MPC と BMA のモル比が 3 : 7 となるように合計 20mM 使用した以外は、上記合成例 1 と同様に合成を行い、ポリマー 3 を得た。尚、ポリマー 3 の分子量は 92000 であった。

合成例 4 MPC/ステアシルメタクリレート共重合体 (9 : 1) の合成

BMA の代わりにステアシルメタクリレートを用い、MPC とステアシルメタクリレートのモル比が 9 : 1 となるように合計 20mM 使用した以外は、上記合成例 1 と同様に合成を行い、ポリマー 4 を得た。尚、ポリマー 4 の分子量は 130000 であった。

合成例 5 MPC/ベンジルメタクリレート共重合体 (8 : 2) の合成

BMA の代わりにベンジルメタクリレートを用い、MPC とベンジルメタクリレートのモル比が 8 : 2 となるように合計 20mM 使用した以外は、上記合成例 1 と同様に合成を行い、ポリマー 5 を得た。尚、ポリマー 5 の分子量は 240000 であった。

た。

合成例6 MPCのホモポリマーの合成

MPC 5.9 g (20mM) を重合用ガラス反応管入れ、これに重合開始剤としての2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) 0.03 g 及び重合溶媒としてのメタノール20mlを加えた。次いで、該反応管内を十分にアルゴン置換した後、密封し、50℃で24時間重合反応を行った。反応混合物を氷冷した後、400mlのジエチルエーテルに滴下することによりポリマーを沈殿させた。得られた沈殿物を濾別し、ジエチルエーテルで充分洗浄した後、減圧乾燥して白色粉末状の重合体を得た。得られた重合体をポリマー6とした。尚、ポリマー6の分子量は110000であった。

合成例7 MPC/QM共重合体 (9 : 1) の合成

BMAの代わりにQMを用い、MPCとQMのモル比が9 : 1となるように合計20mM使用した以外は、上記合成例1と同様に合成を行い、ポリマー7を得た。尚、ポリマー7の分子量は33000であった。

合成例8 MPC/メタクリル酸共重合体 (3 : 7) の合成

BMAの代わりにメタクリル酸を用い、MPCとメタクリル酸のモル比が3 : 7となるように合計20mM使用した以外は、上記合成例1と同様に合成を行い、ポリマー8を得た。尚、ポリマー8の分子量は288000であった。

実施例1 LIAによる前立腺特異抗原 (PSA) の測定 (ポリマーの種類による凝集促進作用への影響)

(1) 抗ヒトPSA抗体感作ラテックス試液の調製

抗ヒトPSAマウスモノクローナル抗体 (和光純薬工業 (株) 製) 0.8mgを含む50mMホウ酸緩衝液 (pH7.1) 0.5mlと、ポリスチレンラテックス [粒径0.22 μ m、積水化学工業 (株)] を2% (W/V) となるように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液 (pH7.1) 0.5mlとを混合し、25℃で2時間反応させた。その後、遠心分離により分離したラテックスを50mMホウ酸緩衝液 (pH7.1) で洗浄し、該ラテックスを濃度が0.1% (W/V) となるように、BSAを0.5% (W/V) 含有する50mMホウ酸緩衝液 (pH7.3) 中で懸濁し、得られたものを抗ヒトPSA抗体感作ラテックス試液とした。

(2) 試料

ヒト精漿由来P S A（和光純薬工業（株）製）を、B S Aを1.0%（W/V）含有する10mM リン酸緩衝液（0.85% N a C l）に溶解し、所定濃度のP S A溶液としたものを試料として用いた。

(3) 試薬

①第1試液

凝集促進剤としての1.5%所定ポリマー、0.1%B S A及び2% N a C lを含む100mM H E P E S－N a O H緩衝液（p H7.0）、並びに凝集促進剤無添加試薬として、0.1%B S A及び2% N a C lを含む100mM H E P E S－N a O H緩衝液（p H7.0）を、第1試液とした。

②第2試液

（1）で調製した抗ヒトP S A抗体感作ラテックス試液を第2試液として用いた。

(4) 測定方法

日本電子（株）B M－8形自動分析装置を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試 料 ： 5 μ l

第1試液： 90 μ l

第2試液： 30 μ l

測定方法：2ポイントエンド法（34－65）

主波長 ：571 n m

(5) 結果

得られた吸光度（濁度）を表1に示した。尚、表中の値は、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを10000倍にしたものである。

比較例1

本発明のポリマーの代わりに、P E G6000を1.5%となるように用いた以外は実施例1と同じ試薬を用い、実施例1と同様の測定を行った。

得られた結果を、実施例1と併せて表1に示した。

表 1

PSA (ng/mL)	凝集促進 剤無添加	実施例1			比較例1
		ポリマー1	ポリマー5	ポリマー6	PEG6000
2	37	71	90	60	75
10	160	512	605	296	292
50	817	5483	5824	2440	1914

表 1 の結果から明らかなように、P S A の測定に於いても、いずれの本発明のポリマーを用いても凝集促進作用が認められた。また、PEG6000の結果と比較すると、何れの本発明のポリマーもPEG6000よりも高い凝集促進作用を示し、中でもポリマー5が、これら3種の中で最も高い効果を示すことが分かった。

実施例2 L I AによるP S Aの測定（ポリマー濃度の凝集促進作用への影響）

(1) 試料

ヒト精漿由来P S A（和光純薬工業（株）製）を、B S Aを1.0%（W/V）含有する10mM リン酸緩衝液（0.85% N a C l）に溶解し、所定濃度のP S A溶液としたものを試料として用いた。

(2) 試薬

①第1試液

凝集促進剤としての所定濃度のポリマー5、0.1% B S A及び2% N a C lを含む100mM H E P E S - N a O H緩衝液（p H7.0）、並びに凝集促進剤無添加試薬として、0.1% B S A及び2% N a C lを含む100mM H E P E S - N a O H緩衝液（p H7.0）を、第1試液とした。

②第2試液

実施例1で得られた調製した抗ヒトP S A抗体感作ラテックス試液を第2試液として用いた。

(3) 測定方法

日本電子（株）B M - 8形自動分析装置を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試 料 : 5 μ l

第1試液 : 90 μ l

第2試液 : 30 μ l

測定方法 : 2ポイントエンド法（34-65）

主波長 : 571 nm

(4) 結果

得られた吸光度（濁度）を表2に示した。尚、表中の値は、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを10000倍にしたものである。

表 2

PSA (ng/mL)	無添加	実施例2		
		1.0%添加	1.5%添加	2.0%添加
2	37	58	90	833
10	160	318	605	3869
50	817	3096	5824	7454

表2の結果から明らかなように、LIAの測定に於いて、ポリマー5による凝集促進作用はポリマー5の濃度の増加により高くなることが分かる。

参考例1 ラテックス免疫比濁法（LIA）によるCRPの測定

(1) 抗ヒトCRP抗体感作ラテックス試液の調製

抗ヒトCRP山羊ポリクローナル抗体（International Immunology Corp. 製）1.1mgを含む50mMホウ酸緩衝液（pH7.1）2mlと、ポリスチレンラテックス（粒径0.12 μ m、積水化学工業（株）製）を1%（W/V）含むように懸濁させた50mMホウ酸緩衝液（pH7.1）1mlとを混合し、30℃で2時間反応させた。その後、遠心分離により分離したラテックスを50mMホウ酸緩衝液（pH7.1）で洗浄し、該ラテックスを濃度が0.2%（W/V）となるように、牛血清アルブミン（BSA）を0.5%（W/V）含有する50mMホウ酸緩衝液（pH7.3）中で懸濁した。得られた懸濁液を、抗ヒトCRP抗体感作ラテックス試液とした。

(2) 試料

生理食塩水（0.85%NaCl、CRP濃度：0mg/dL）を試薬盲検測定用試料とし、CRPキャリブレーターセット（CRP濃度：3mg/dL、和光純薬工業（株）製）を生理食塩水（0.85%NaCl）で、10段階希釈したものをCRP特異的吸光度測定用試料とした。

(3) 試薬

①第1試液

凝集促進剤として先に合成したポリマー1、ポリマー5、ポリマー6を用い、

所定濃度の所定ポリマー、0.1% BSA及び1% NaClを含む100mM HEPES-NaOH緩衝液（pH7.0）を、また、凝集促進剤無添加試薬として、0.1% BSA及び1% NaClを含む100mM HEPES-NaOH緩衝液（pH7.0）を、第1試液とした。

②第2試液

上記(1)で調製した抗ヒトCRP抗体感作ラテックス試液を第2試液とした。

(4)測定方法

日本電子（株）製BM-8形自動分析装置を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試料：1.25 μ l

第1試液：75 μ l

第2試液：25 μ l

測定方法：2ポイントエンド法（34-65）

主波長：571nm

(5)結果

得られた吸光度（濁度）を表3に示した。尚、表中の値は、得られた吸光度から試薬盲検測定用試料を測定して得られた値（試薬盲検値）を減算したものを10000倍にしたものである。

比較例2

本発明のポリマーの代わりに、凝集促進剤として汎用されているPEG6000を所定濃度使用した以外は、参考例1と同じ試薬を用い、実施例1と同様の測定を行った。

結果を表3に、参考例1の結果と併せて示した。

表 3

CRP (mg/dL)	無添加	参考例1						比較例2	
		ポリマー1		ポリマー5		ポリマー6		PEG6000	
添加濃度	0	0.5%	1.0%	0.5%	1.0%	0.5%	1.0%	0.5%	1.0%
0.3	302	436	626	427	566	381	487	371	468
0.6	750	1143	1815	1067	1544	941	1220	922	1163
0.9	1310	2075	3600	1950	3024	1720	2266	1598	2056
1.2	1961	3221	5595	2965	4662	2566	3447	2405	3029
1.5	2723	4577	7367	4152	6230	3564	4673	3333	4096
1.8	3527	5906	8656	5367	7725	4657	6012	4254	5194
2.1	4346	7022	9242	6512	8672	5685	7042	5154	6100
2.4	5212	8017	9464	7506	9104	6511	7754	6066	6974
2.7	5991	8630	9512	8225	9421	7387	8424	6827	7612
3.0	6533	9011	9458	8690	9480	7919	8752	7356	7996

表 3 の結果から明らかなように、いずれの本発明のポリマーに於いても凝集促進作用が認められた。また、比較例 2 の PEG6000 の結果と比較すると、何れの本発明のポリマーも PEG6000 よりも高い凝集促進作用を示し、特にポリマー 1 及びポリマー 5 は高い効果を示すことが分かる。

参考例 2 L I A によるヒト血清中 C R P の測定

(1) 試料

検体として、ヒト血清 12 例を用いた。また、検量線作成用試料には、生理食塩水 (0.85% N a C l) 及び C R P キャリブレーターセット (C R P 濃度: 1、3、5、20、30mg/dL、和光純薬工業 (株) 製) を用いた。

(2) 試薬

①第 1 試液

凝集促進剤としての 0.5% 所定ポリマー、0.1% B S A 及び 1% N a C l を含む 100mM H E P E S - N a O H 緩衝液 (p H 7.0) を第 1 試液とした。

②第 2 試液

実施例 1 (1) で調製された抗ヒト C R P 抗体感作ラテックス試液を第 2 試液として用いた。

(3) 測定方法

日本電子 (株) B M - 8 形自動分析装置を用い、以下の測定条件で検体及び試料の吸光度測定を行った。

生理食塩水を測定して得た吸光度を試薬盲検値として、C R P キャリブレータ

一セットの各標準液を測定して得た吸光度から試薬盲検値を減算し、その値と標準液のCRP濃度とから検量線を作成した。その後、測定して得られた検体の吸光度から試薬盲検値を減算した値を検量線にあてはめて、ヒト血清中のCRP濃度を求めた。

試料 : $1.25\mu\text{l}$

第1試液 : $75\mu\text{l}$

第2試液 : $25\mu\text{l}$

測定方法 : 2ポイントエンド法 (34-65)

主波長 : 571nm

(4)結果

得られたCRP濃度 (mg/dL) を表2に示した。

比較例3 LTオートワコーによるヒト血清中CRP濃度の測定

試薬としてLTオートワコー (和光純薬工業 (株) 製) を用いた以外は、参考例2と同じ方法により測定を行った。得られたCRP濃度 (mg/dL) を参考例2の結果と併せて示した。

表4

血清検体	参考例2(mg/dL)			比較例3(mg/dL)
	ポリマー1	ポリマー5	ポリマー6	LTオートワコー
1	0.01	0.02	0.02	0.02
2	0.03	0.04	0.05	0.04
3	0.04	0.04	0.06	0.05
4	0.10	0.11	0.11	0.11
5	0.16	0.17	0.18	0.17
6	0.19	0.20	0.21	0.21
7	0.31	0.32	0.32	0.31
8	0.96	0.97	0.96	0.96
9	1.06	1.06	1.06	1.05
10	1.29	1.30	1.27	1.27
11	1.77	1.78	1.76	1.78
12	1.86	1.89	1.86	1.88
平均	0.65	0.66	0.65	0.65

表4の結果から明らかなように、本発明の方法による測定結果は、従来法であるLTオートワコーを用いた場合の測定値と同等であり、本発明による測定方法は、従来の方法と高い相関性を示すこと、言い換えれば、本発明のポリマーを用いることにより、非特異的反応を生じることなく、目的の測定対象物質を高精度

に測定し得ることが分かる。

参考例 3 免疫比濁法 (T I A) による C R P の測定 (ポリマー種類の凝集促進作用への影響)

(1) 試料

生理食塩水 (0.85% N a C l) を試薬盲検測定用試料とし、C R P キャリブレーターセット (C R P 濃度 : 1、3、5、20、30mg/dL、和光純薬工業 (株) 製) を C R P 特異的吸光度測定用試料として用いた。

(2) 試薬

① 第 1 試液

凝集促進剤としての 1 % 所定ポリマー及び 1 % N a C l を含む 50mM H E P P S O - N a O H 緩衝液 (p H 8.2)、並びに凝集促進剤無添加として、1 % N a C l を含む 50mM H E P P S O - N a O H 緩衝液 (p H 8.2) を、第 1 試液とした。

② 第 2 試液

C R P α オートワコー抗体溶液 (和光純薬工業 (株) 製) を第 2 試液とした。

(3) 測定方法

日立製作所 (株) 製自動分析装置 7150 形を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試 料 : 10 μ l

第 1 試液 : 250 μ l

第 2 試液 : 50 μ l

測定方法 : 2 ポイントエンド (24-50)

主波長 : 340 n m

副波長 : 700 n m

(4) 結果

得られた吸光度 (濁度) を表 5 に示した。尚、表中の C R P 濃度が 1 ~ 30 (mg/dL) の欄には、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを 10000 倍にした値を示し、また、試薬盲検欄には、精製水の吸光度が 0 となるように設定した条件で測定した試薬盲検値を、10000 倍した値を示した。

表 5

CRP (mg/dl)	凝集促進剤 無添加	参考例3							
		ポリマー-1	ポリマー-2	ポリマー-3	ポリマー-4	ポリマー-5	ポリマー-6	ポリマー-7	ポリマー-8
試薬盲検	198	177	188	187	173	189	188	201	211
1	5	52	10	6	16	21	13	25	59
3	26	142	57	32	87	112	93	139	218
5	57	264	106	75	150	208	162	264	396
20	385	1476	723	456	976	1327	1174	1478	2110
30	668	2770	1261	876	1829	2388	2136	2545	3376

表5の結果から、T I AによるCRPの測定に於いても、いずれの本発明のポリマーを用いても凝集促進作用が認められた。また、いずれのポリマーにおいても、試薬盲検値は凝集促進剤無添加試薬を用いた場合と同等であり、非特異反応は見られなかった。

参考例4 T I AによるCRPの測定（ポリマー濃度の凝集促進作用への影響）

(1) 試料

生理食塩水（0.85%NaCl）を試薬盲検測定用試料とし、CRPキャリブレーターセット（CRP濃度：1、3、5、20、30mg/dL、和光純薬工業（株）製）をCRP特異的吸光度測定用試料として用いた。

(2) 試薬

①第1試液

凝集促進剤としての所定濃度のポリマー1及び1%NaClを含む50mM HEPPO-NaOH緩衝液（pH8.2）を第1試液とした。

②第2試液

CRP α オートワコー抗体溶液（和光純薬工業（株）製）を第2試液とした。

(3) 測定方法

日立製作所（株）製自動分析装置7150形を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試料：10 μ l

第1試液：250 μ l

第2試液：50 μ l

測定方法：2ポイントエンド（24-50）

主波長：340nm

副波長 : 700 nm

(4) 結果

得られた吸光度（濁度）を表6に示した。尚、表中のCRP濃度が1～30（mg/dL）の欄には、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを10000倍にした値を示し、また、試薬盲検欄には、精製水の吸光度が0となるように設定した条件で測定した試薬盲検値を、10000倍した値を示した。

表 6

CRP (mg/dl)	参考例4			
	0%	0.5%	1%	2%
試薬盲検	192	189	177	186
1	3	10	52	77
3	32	61	142	212
5	66	122	264	380
20	403	842	1476	1845
30	717	1597	2770	3203

表6の結果から、TIAによる測定に於いて、ポリマー1を用いた場合、その凝集促進作用はポリマー1の濃度の増加に伴って高くなることが分かる。また、ポリマー濃度を増量しても試薬盲検値はほぼ一定であり、非特異反応は見られなかった。

参考例5 ヒト血清中CRPの測定

(1) 試料

検体としてヒト血清26例を用いた。検量線作成用試料には、生理食塩水（0.85%NaCl）及びCRPキャリブレーターセット（CRP濃度：1、3、5、20、30mg/dL、和光純薬工業（株）製）を用いた。

(2) 試薬

①第1試液

凝集促進剤としての2.5%ポリマー5及び1%NaClを含む50mM HEPES O-NaOH緩衝液（pH8.2）を第1試液とした。

②第2試液

CRP α オートワコー抗体溶液（和光純薬工業（株）製）を第2試液とした。

(3) 測定方法

CRP α オートワコーの測定方法に従い、日立製作所（株）製自動分析装置7150

形を用い、以下の測定条件で測定を行った。

生理食塩水を測定して得た吸光度を試薬盲検値として、CRPキャリブレーターセットの各標準液を測定して得た吸光度から試薬盲検値を減算し、その値と標準液のCRP濃度とから検量線を作成した。その後、測定して得られた検体の吸光度から試薬盲検値を減算した値を検量線にあてはめて、ヒト血清の中のCRP濃度を求めた。

試料 : $10\mu\text{l}$

第1試液 : $250\mu\text{l}$

第2試液 : $50\mu\text{l}$

測定方法 : 2ポイントエンド (24-50)

主波長 : 340nm

副波長 : 700nm

比較例4 CRP α オートワコーによるヒト血清中CRP濃度の測定

試薬の第1試液をCRP α オートワコー（和光純薬工業（株）製）の第1試液を用いた以外は、参考例5と同じ方法により測定を行った。

得られたCRP濃度 (mg/dL) と上記参考例5で得られたCRP濃度 (mg/dL) の相関関係を図1に示した。尚、図1において、その相関式は、 $Y=1.010X-0.04$ で、相関係数は $r=0.9999$ であった。

この結果から明らかなように、本発明の方法によるCRPの測定結果は、従来法であるCRP α オートワコーを用いた場合のCRP測定の結果と高い相関性を示すことと、言い換えれば、本発明のポリマーを用いることにより、非特異的反応を生じることなく、目的の測定対象物質を高精度に測定し得ることが分かる。

参考例6 TIAによるリウマチ因子 (RF) の測定 (ポリマー種類の凝集促進作用への影響)

(1) 試料

生理食塩水 ($0.85\%\text{NaCl}$) を試薬盲検測定用試料とし、RF TIAキャリブレーターセット (RF濃度 : 37 、 71 、 156 、 310 、 498IU/ml 、和光純薬工業（株）製) をRF特異的吸光度測定用試料として用いた。

(2) 試薬

① 第1試液

凝集促進剤としての1%所定ポリマー及び4%NaClを含む50mM HEPES-NaOH緩衝液(pH7.4)、並びに凝集促進剤無添加試薬として、4%NaClを含む50mM HEPES-NaOH緩衝液(pH7.4)を、第1試液とした。

② 第2試液

RF-HAテストワコーRF反応試液(和光純薬工業(株)製)を第2試液とした。

(3) 測定方法

日立製作所(株)製自動分析装置7150形を用い、以下の測定条件で測定を行った。

試料 : 15 μ l

第1試液 : 250 μ l

第2試液 : 75 μ l

測定方法 : 2ポイントエンド(24-50)

主波長 : 340 nm

副波長 : 700 nm

(4) 結果

得られた吸光度(濁度)を表7に示した。尚、表中のRF濃度が37~498(IU/mL)の欄には、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを10000倍にした値を示し、また、試薬盲検欄には、精製水の吸光度が0となるように設定した条件で測定した試薬盲検値を、10000倍した値を示した。

表7

RF (IU/ml)	凝集促進剤 無添加	参考例6					
		ポリマー-1	ポリマー-2	ポリマー-3	ポリマー-4	ポリマー-5	ポリマー-6
試薬盲検	111	128	133	138	132	121	114
37	3	8	4	4	10	15	2
71	9	85	15	20	25	71	40
156	133	464	215	183	316	458	392
310	794	1192	938	897	1043	1217	1166
498	1525	1902	1679	1643	1866	1928	1941

表 7 の結果から、T I A による R F の測定に於いても、いずれの本発明のポリマーでも凝集促進作用が認められた。また、いずれのポリマーにおいても、試薬盲検値は凝集促進剤無添加試薬を用いた場合と同等であり、非特異反応は見られなかった。

参考例 7 T I A によるリウマチ因子 (R F) の測定 (ポリマー濃度と凝集促進作用)

凝集促進剤として所定濃度のポリマー 6 を用いた以外は参考例 6 と同じ試薬を用い、参考例 6 と同様の測定を行った。

(1) 結果

得られた吸光度 (濁度) を表 8 に示した。尚、表中の R F 濃度が 37~498 (IU/mL) の欄には、得られた吸光度から試薬盲検値を減算したものを 10000 倍にした値を示し、また、試薬盲検欄には、精製水の吸光度が 0 となるように設定した条件で測定した試薬盲検値を、10000 倍した値を示した。

表 8

RF (IU/ml)	参考例 6				
	0%	0.5%	1%	2%	3%
試薬盲検	111	118	114	110	97
37	3	3	2	32	156
71	9	15	40	189	377
156	133	254	392	654	872
310	794	1042	1166	1466	1707
498	1525	1997	1941	2223	2495

表 8 の結果から、T I A による測定に於いて、ポリマー 6 を用いた場合、その凝集促進作用は、ポリマー 6 の濃度の増加に伴って高くなることが分かる。また、ポリマー濃度を増量しても試薬盲検値はほぼ一定であり、非特異反応は見られなかった。

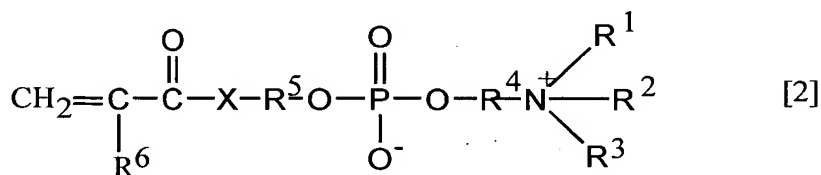
【特許請求の範囲】

【請求項 1】 下記一般式 [2].

(式中、 $R^1 \sim R^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、Xは酸素原子又は $-NH-$ 基を示す。)

で表されるモノマーに由来するモノマー単位を有するポリマーの存在下に抗原抗体反応を行わせることを特徴とする前立腺特異抗原の免疫学的測定法。

【請求項 2】 ポリマーが、下記一般式 [2]

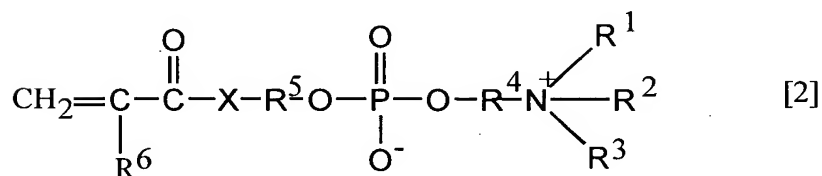


(式中、 $R^1 \sim R^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、Xは酸素原子又は $-NH-$ 基を示す。)

で示されるモノマーと、アクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はそのN置換体、メタクリルアミド又はそのN置換体或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーとの共重合体である、請求項 1 に記載の測定法。

【請求項 3】 アクリル酸エステルが、アルキルアクリレート又はアラルキルアクリレートである、請求項 2 に記載の測定法。

【請求項 4】 メタクリル酸エステルが、アルキルメタクリレート又はアラルキルメタクリレートである、請求項 2 に記載の測定法。



【請求項 5】 アクリルアミドの N 置換体が、N-アルキルアクリルアミド又は N-アラルキルアクリルアミドである、請求項 2 に記載の測定法。

【請求項 6】 メタクリルアミドの N 置換体が、N-アルキルメタクリルアミド又は N-アラルキルメタクリルアミドである、請求項 2 に記載の測定法。

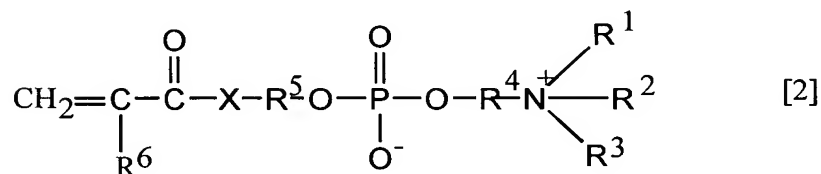
【請求項 7】 メタクリル酸エステルが、メタクリル酸ステアリル、メタクリル酸ベンジル、メタクリル酸ポリオキシエチル、メタクリル酸ブチル、又は N,N,N-トリメチルアンモニウム-2-ヒドロキシプロピルメタクリレートクロリドである、請求項 2 に記載の測定法。

【請求項 8】 メタクリル酸エステルが、メタクリル酸ベンジルである、請求項 2 に記載の測定法。

【請求項 9】 共重合体中の、一般式 [2] で示されるモノマーに由来するモノマー単位の比率が 20% 以上 100% 未満である、請求項 7 又は 8 に記載の測定法。

【請求項 10】 ポリマーの分子量が、10,000~1,000,000 である、請求項 9 に記載の測定法。

【請求項 11】 下記一般式 [2]



(式中、 $\text{R}^1 \sim \text{R}^3$ は夫々独立して水素原子又は水酸基を有していてもよいアルキル基を示し、 R^4 はアルキレン基を示し、 R^5 は、置換基を有していてもよく且つ鎖中に酸素原子を有していてもよいアルキレン基を示し、 R^6 は水素原子又はメチル基を示し、X は酸素原子又は -NH- 基を示す。)

で示されるモノマーと、アクリル酸又はアクリル酸エステル、メタクリル酸又はメタクリル酸エステル、アクリルアミド又はその N 置換体、メタクリルアミド又はその N 置換体、或いはスチレン又はその誘導体から選ばれるモノマーとの共重合体を含んでなる試薬と、前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原を含んでなる試薬と組み合わせてなる、前立腺特異抗原の免疫学的測定用試薬キット

。 【請求項 1 2】 前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原が、担体に担持されたものである請求項 1 1 に記載のキット。

【請求項 1 3】 前立腺特異抗原に対する抗体又は前立腺特異抗原が、担体に担持された抗体である請求項 1 2 に記載のキット。

【請求項 1 4】 担体がラテックスである、請求項 1 3 に記載のキット。

【請求項 1 5】 メタクリル酸エステルが、メタクリル酸ステアリル、メタクリル酸ベンジル、メタクリル酸ポリオキシエチル、メタクリル酸ブチル、N,N,N-トリメチルアンモニウム-2-ヒドロキシプロピルメタクリレートクロリドである、請求項 1 1 ～ 1 3 の何れかに記載のキット。

【請求項 1 6】 メタクリル酸エステルが、メタクリル酸ベンジルである、請求項 1 1 ～ 1 3 の何れかに記載のキット。